



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

## **FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**

**ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE  
*Minthostachys mollis* “Muña” SOBRE *Shigella flexneri* ATCC  
12022, COMPARADO CON CIPROFLOXACINO, ESTUDIO IN  
VITRO**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
MÉDICO CIRUJANO**

**AUTORA:**

**VARGAS SALVADOR KAREN AYME**

**ASESORES:**

**Dra. MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ**

**MG. BLGO. JAIME POLO GAMBOA**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:**

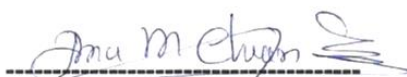
**ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRASMISSIBLES**

**Trujillo – Perú**

**2018**

**PÁGINA DEL JURADO**

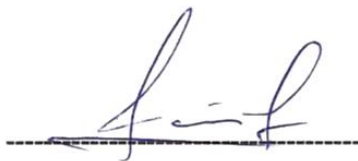
**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE  
*Minthostachys mollis* "Muña" SOBRE *Shigella flexneri* ATCC  
12022, COMPARADO CON CIPROFLOXACINO, ESTUDIO IN  
VITRO**



**DRA. ANA CHIAN GARCÍA  
PRESIDENTE DEL JURADO**



**DRA. MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ  
SECRETARIA**



**MG. BLGO. JAIME POLO GAMBOA  
VOCAL**

Trujillo, de diciembre del 2018.

## **DEDICATORIA**

A DIOS, por ser quien me ha fortalecido durante este arduo trayecto y por ser quien me ha ayudado a conseguir lo que ahora tengo, por ser el dueño y Señor mío, a quien debo todos mis logros. Te amo JEHOVÁ

A mi madre María Elena, quien gracias a su esmero incansable y apoyo incondicional e logrado todos mis triunfos, por ser el ser más gentil y valiente, por ser mi todo, por estar en los buenos y malos momentos, por ser quien me ha llenado de todo su amor.

A mi padre Nemesio Augusto, quien por ser la cabeza de mi familia nunca permitió que nos faltara un pan en la mesa, por su gran sacrificio de darnos lo mejor, por su fortaleza, por ser mi modelo de padre.

A mi querido Alexander, por brindarme siempre su apoyo incondicional, por ayudarme a ser fuerte en este camino arduo, por su paciencia, comprensión y sobre todo por su amor, ya que es un gran compañero y excelente papá.

A mi hija, quien me ha demostrado paciencia cuando he estado siempre fuera de casa, por esperarme con una sonrisa y con tanta felicidad, por ser ese motorcito quien cambió mi vida, quien me ha ayudado a seguir adelante y por ser ella mi inspiración.

***Karen Vargas***

## **AGADECIMIENTOS**

A mis hermanas Alayda y Yeniffer, quienes siempre han estado dispuestas a ayudarme ante cualquier problema, por apoyarme en todo momento.

A mi suegra Mery, por su paciencia y por qué ha estado conmigo apoyándome en el cuidado de mi salud, una excelente persona, noble y siempre dispuesta a ayudar.

A la Dra. María Llaque, que gracias a su calidad de docencia he logrado culminar satisfactoriamente esta etapa de mi vida, por sus enseñanzas y sentido del humor, por su paciencia y dedicación. Por ser modelos a seguir.

Al Mg. Blgo. Jaime Polo, por su apoyo en la parte de la realización del experimento, un excelente docente.

A la Universidad César Vallejo, por el acceso a laboratorio para la realización de mi tesis.

***Karen Vargas***

## DECLARACIÓN DE AUNTENTICIDAD

Yo, Karen Ayme Vargas Salvador, con DNI 45357471, estudiante de la escuela Profesional de Medicina de la Facultad de Ciencias Médicas, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan a la tesis titulada, **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys mollis* “Muña” SOBRE *Shigella flexneri* ATCC 12022, COMPARADO CON CIPROFLOXACINO, ESTUDIO IN VITRO.**

Son:

1. De mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas; por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido autoplagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

En total sentido la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, de Diciembre 2018.

## PRESENTACIÓN

Señores miembros del jurado:

En cumplimiento del reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la tesis titulada: **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys mollis* “Muña” SOBRE *Shigella flexneri* ATCC 12022, COMPARADO CON CIPROFLOXACINO, ESTUDIO IN VITRO**, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla los requisitos de aprobación para obtener el Título Profesional de Médico Cirujano.

(LA AUTORA)

## INDICE

### PÁGINAS PRELIMINARES

Página del Jurado .....	i
Dedicatoria .....	ii
Agradecimiento .....	iii
Declaratoria de autenticidad.....	iv
Presentación .....	v
Índice.....	vi
RESUMEN .....	vii
ABSTRACT .....	viii
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1. Realidad problemática.....	1
1.2. Trabajos previos.....	2
1.3. Teorías relacionadas al tema .....	5
1.4. Formulación del problema .....	11
1.5. Justificación del estudio.....	11
1.6. Hipótesis.....	12
1.7. Objetivos .....	12
<b>II. METODO.....</b>	<b>13</b>
2.1. Diseño de investigación.....	13
2.2. Variables, operacionalización.....	14
2.3. Población y muestra .....	15
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	16
2.5. Métodos de análisis de datos .....	17
2.6. Aspectos éticos .....	17
<b>III. RESULTADOS.....</b>	<b>18</b>
<b>IV. DISCUSIÓN .....</b>	<b>22</b>
<b>V. CONCLUSIONES .....</b>	<b>24</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>24</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>25</b>
<b>VIII. ANEXOS.....</b>	<b>30</b>

## RESUMEN

Se realizó un estudio experimental in vitro con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* “Muña”, sobre cepas de *Shigella flexneri* ATCC 12022, comparado con ciprofloxacino a 1ug, en un estudio in vitro. Se realizaron cuatro diluciones (100%, 75%, 50% y 25%) y un control neutro con DMSO; realizaron 12 repeticiones por cada grupo de estudio (60 Observaciones). Se obtuvo que el aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* “Muña”, muestra halos de inhibición a partir de la dilución al 25% (11.3mm, DS:1.923 IC 95% 10.11 – 12.55), y va aumentando conforme aumenta la concentración (50% y 75%) los valores de los halos no superan al patrón del CLSI ( $\geq 21$ mm), sin embargo a la concentración del 100% es más eficaz, el halo de inhibición fue de 25.42mm (DS: 3.175. IC 95% 23.40 - 27.43); pero fue menor a ciprofloxacino (38.67mm, DS: 2.229, IC 95% 37.25 – 40.08). Se concluye que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* “Muña” si tiene efecto antibacteriano sobre *Shigella flexneri* ATCC 12022 a la concentración del 100%.

Palabras clave: *Minthostachys mollis*, efecto antibacteriano de *Minthostachys mollis*.



## ABSTRACT

An *in vitro* experimental study was undertaken with the objective of evaluating the antibacterial effect of essential-oil of Muña *Minthostachys mollis* leaf on strains of *Shigella flexneri* ATCC 12022 compared to ciprofloxacin at 1ug,. Four dilutions were studied, of 100%, 75%, 50% and 25%, and a neutral control with DMSO, with 12 repetitions for each study group totaling 60 observations. The essential-oil of Muña *Minthostachys mollis* leaf gave results of zones of inhibition at 25% dilution of 11.3 mm, DS: 1.923 IC 95% 10.11 – 12.55, increasing with concentrations of 50% and 75%; the zones of inhibition do not exceed the CLSI patterns ( $\geq 21$ mm); however, at 100% concentration the zones of inhibition was more efficient, at 25.42 mm (DS: 3.175. IC 95% 23.40 – 27.43), but less than ciprofloxacin (38.67 mm, DS: 2.229, IC 95% 37.25 – 40.08). In conclusion, essential-oil of Muña *Minthostachys mollis* leaf has an antibacterial effect on *Shigella flexneri* ATCC 12022 at 100% concentration.

Key words: *Minthostachys mollis*, antibacterial effect of *Minthostachys mollis*.

## **I. INTRODUCCIÓN**

### **1.1 Realidad Problemática**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 2017 reportó que a nivel mundial, cada año fallecen 525 000 niños menores de 5 años por enfermedades diarreicas; el 90% de ellos ocurre en países en desarrollo. Además reportó 1700 millones de casos de enfermedades diarreicas infantiles por año<sup>1, 2</sup> El 5-10% de los casos de diarrea es causada por *Shigella*.<sup>2</sup>

En Chile en el año 2010, el Laboratorio de referencia de Agentes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos y el Instituto de Salud Pública confirmó 351 casos de *Shigella* spp correspondientes a 18 serotipos, siendo los grupos de edad entre 2 a 20 años.<sup>3</sup> En Argentina fueron comunicados en el año 2000: un brote por *S. flexneri* (n=70) en el comedor de una empresa y otro por *Shigella* spp. (n=15).<sup>4</sup>

En países en desarrollo, el 8,0% a 13,0% de los casos de diarrea en niños menores de cinco son debido a *Shigella*.<sup>5</sup> En el Perú (2017) se reportó 986 112 casos de EDA (IA 309,8 x 10000 Hab.) y en niños menores de 5 años se reportó 304 485 casos. En la Libertad (2017) se reportó 288.2 casos, en el Distrito el Porvenir (2001) 27 casos, siendo para *S. flexneri* 9 casos y *S. sonnei* 3 casos.<sup>5</sup>

Es por ello que es de suma importancia su identificación para poder establecer un tratamiento oportuno y apropiado. Siendo el tratamiento de elección el ciprofloxacino una quinolona activa frente a un amplio espectro de gérmenes gram negativos aerobios, no siendo activo contra gérmenes anaerobios. <sup>6,7</sup>

Es importante resaltar el estudio de sustancias de origen natural (como es el aceite esencial de *Minthostachys mollis*) para evaluar el efecto antimicrobiano. Actualmente se usan plantas medicinales para atacar ciertas enfermedades, destacando la “muña” *Minthostachys mollis*, planta natural de la sierra peruana, es muy utilizada en diversas regiones de nuestro país, presentando propiedades curativas para afecciones intestinales (diarreas de tipo bacteriano). <sup>8</sup>

## 1.2 Trabajos previos

Aigaje A. (Ecuador, 2017), evaluó la actividad antibacteriana del aceite esencial de muña frente a *Porphyromonas gingivalis*, siendo obtenida en la serranía Ecuatoriana. El aceite esencial se obtuvo mediante destilación por arrastre de vapor de agua, el mismo que fue diluido para obtener tres concentraciones al 25%, 50% y 100%, se utilizó Clorhexidina al 0,12% y Ampicilina de 10ug como control positivo y agua como control negativo. Al realizar las pruebas de sensibilidad in vitro se obtuvo los siguientes resultados: la efectividad antibacteriana al 25% obtuvo un halo promedio de 11,2 mm, al 50% la efectividad alcanzó una media de 9,6 mm y al 100% logró un promedio de 13,6 mm, siendo esta concentración la más efectiva ( $p=.000$ , kruskal wallis). Conclusiones: Tanto la clorhexidina al 0,12 y la ampicilina de 10 ug, presentan una mejor actividad antimicrobiana que el aceite esencial de *Minthostachys mollis*.<sup>9</sup>

Baca C. (Perú, 2017), determinó el efecto antibiótico del aceite esencial de la muña mediante el extracto etanólico, obteniendo como resultado: el aceite esencial muña a la concentración del 100% ejerció mayor efecto frente a *P. vulgaris* con un halo de inhibición promedio de 16.10 mm ( $p=.000$ , ANOVA estadísticamente significativo), se evaluó que las demás concentraciones al 75% tuvo un halo de inhibición de 13,30 mm, al 50% un halo de inhibición de 11,90 mm, control positivo: Vancomicina con un halo de 18 mm. Así mismo determinó mayor efecto antibacteriano frente a otras especies *P. rettgeri*, *P. morganii* y *P. mirabilis* a la concentración de muña al 100% tienen halos de: 8.85 mm, 9.95 mm y 9.43 mm respectivamente. Control positivo: Vancomicina presentó mayor actividad antibacteriana con un halo de inhibición de 20mm.<sup>10</sup>

Quispe D. Mamani J. (Perú, 2016), determinaron el efecto antibacteriano del aceite esencial de muña frente a cepas de *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus Faecalis*. El aceite esencial se obtuvo mediante destilación por arrastre de vapor de agua. Se obtuvieron como resultado: Para *Staphylococcus aureus*: aceite esencial al 100%, 75%, 50% y 25% presentaron los siguientes halos de inhibición: 23.50mm, 20.88mm, 18.69mm y 12.89mm respectivamente, para el control positivo Paramonoclorofenol alcanforado 17.76mm, evidenciaron mayor efectividad a la concentración 100%. Para *Enterococcus faecalis*: aceite esencial al 100%, 75%, 50% y 25% presentaron los siguientes halos de inhibición: 15.82mm, 15.07mm, 13.86mm, 9.88mm y para Paramonoclorofenol alcanforado 15.33mm; encontrando mayor efecto antibacteriano a la concentración del 100%. Concluyéndose que el aceite de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña), presentó una gran actividad inhibitoria sobre las muestras de microorganismos en estudio: *Enterococcus Faecalis*, *Staphylococcus Aureus* ( $p=.000$ , ANOVA)  $< 0.05$  (estadísticamente significativo).<sup>11</sup>

Huari G. (Perú, 2014), evaluó el efecto antibacteriano del aceite esencial de muña frente a *Streptococcus mutans*, recogió 8 kilos de hojas de muña en la ciudad de Tarma-Junín. Se reactivó y sembró la cepa de *Streptococcus mutans* en medio de cultivo con agar de tripticasa de soja (TSA), empleando la prueba de susceptibilidad. Los discos de papel se embebieron con filtro estéril con 10 ul de aceite esencial al 100%, 50% y 25%. Cada disco se incubó anaerobicamente por el método de extinción de la vela a 37 ° C por 48 horas. El aceite esencial diluido al 100% obtuvo un diámetro de 10,79 mm, al 50% 7,6 mm, al 25% de 5 mm, el control positivo (amoxicilina) 49,3 mm y control negativo el dimetilsulfóxido; se realizó el análisis de ANOVA de los datos numéricos de los halos de inhibición, se obtuvo  $p=0.000 < 0.05$  (estadísticamente significativo). Se concluyó que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 % tuvo mayor efecto antibacteriano pero comparado con el control positivo (amoxicilina) presentó menor efecto antibacteriano.<sup>12</sup>

Alaba W. (Perú, 2013), en su estudio recogió 12 kg de hojas de muña, y obtuvo aceites esenciales mediante la destilación con vapor. Aplicó el método del disco de sensibilidad, usó 20 µl de cada concentración del aceite esencial de alcohol de muña y yoduro de potasio yodado (2% IKI). Encontró efecto antibacteriano contra las cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. El aceite esencial de la muña al 100% y 50% presentaron efecto antibacteriano cuantitativamente frente a la cepa *Enterococcus faecalis* con un halo inhibitorio de 11 mm y 8 respectivamente, con una significación menor de 0.05%. <sup>13</sup>

Azaña I. (Perú, 2010), realizó un estudio donde determinó la efectividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "Muña" por método de difusión de agar, utilizó 600 g de hojas y obtuvo 15 ml de aceite esencial, utilizó la técnica de arrastre de vapor. El aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100% y 50% tuvieron mayor efectividad antibacteriana contra la cepa *Enterococcus faecalis* con halos de inhibición de 9,0 mm y 7,0 mm, control positivo (paramonoclorofenol alcanforado) 12.2mm. El aceite esencial al 100% y 50% tuvieron mayor efecto antibacteriano contra la cepa *Fusobacterium nucleatum* con halos inhibidores de 12,7 mm y 9,9 mm, control positivo 15.3 mm, Se realizó la prueba estadística de Kruskal y Wallis ( $p= 0.001$ ) menor 0.05% (estadísticamente significativo). El aceite esencial al 100% y 50% tuvieron mayor actividad antibacteriana contra la cepa *Prevotella melaninogénica* con halos inhibidores de 11,9 mm, 9,0 mm, control positivo 13.2 mm con una significación menor del 0.05% ( $p=0.004$ , Kruskal y Wallis). <sup>14</sup>

Carhuapoma M, et al. (Perú, 2009), realizaron un estudio con las hojas de *M. mollis* en la ciudad de Huamanguilla-Huanta-Ayacucho. El aceite esencial se obtuvo por destilación por vapor de agua. Se observó que el aceite esencial de muña al 100% tuvo mayor efecto antibacteriano frente a *H. pylori* con halo de inhibición promedio de 17,07 mm, para *S. typhi* 14,25 mm, para *S. dysenteriae* 21,41 mm.

Los halos de inhibición para ciprofloxacino fueron: para *H. pylori* 177,27; *S. typhi* 63,44mm y *S. dysenteriae* 126,11mm; y para el cloranfenicol: *H. pylori* 92,86mm; *S. typhi* 135,95mm y *S. dysenteriae* 171,97mm; se realizó el análisis de varianza ANOVA de los datos numéricos de los halos de inhibición, mostrando significancia estadística.<sup>15</sup>

Díaz K. (Perú, 2005), determinó la actividad antibacteriana del aceite esencial de muña contra *S. mutans*, *Lactobacillus* sp., *Fusobacterium Nucleatum*, *Actinobacillus actinoyicetencomitans* y *Actinomyces* sp. Obtuvo por cada 300gr de hojas, tallos y flores: 2ml de aceite esencial por la técnica de arrastre de vapor. El control positivo fue amoxicilina 30ug y el negativo fue agua destilada. Establecieron mayor efecto antibacteriano frente a *S. mutans* a la concentración de muña al 100% con halo de inhibición promedio 16,75 mm. El aceite esencial de muña tuvo mayor diámetro de inhibición para *Fusobacterium nucleatum* 20,13 mm ( $p=0.007$ , ANOVA) y el menor diámetro para *Actinomyces* sp. 11,00 mm. Los diámetros de inhibición con Amoxicilina para *S. mutans* fue de 68.00mm y el de menor diámetro fue *Actinomyces* sp. (33,25 mm).<sup>16</sup>

### **1.3 Teorías relacionadas al tema**

Más de 90% de los casos de diarrea aguda fueron ocurridos por agentes infecciosos, entre ellos la *Shigella* (desde 1897 se reconoce como microorganismo causal de la disentería), el 10% restante fue debido a medicamentos, ingestión de sustancias tóxicas, isquemia y otros trastornos. La mayor parte de las diarreas infecciosas se transmite por vía fecal-oral, a través de contactos personales directos o, con mayor frecuencia, al ingerir alimentos o agua contaminados con los microorganismos patógenos que están en las heces de humanos o de animales.<sup>17</sup>

El género *Shigella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae; está conformado por bacilos cortos gramnegativos no agrupados, de 0.7 µm x 3 µm de diámetro; inmóviles, no presentan cápsula ni esporulan y su DNA tiene una semejanza del 70-75% respecto al de *Escherichia coli*, estableciendo una gran relación con esta especie. En relación a su antígeno O, este género se divide en cuatro grupos abarcando a su vez 43 serotipos (42 según otros autores). La *Shigella* tiene una estructura antigénica siendo el antígeno somático "O" y pueden o no tener antígeno K. <sup>18,19</sup>

Los serogrupos se subdividen en tipos, sobre la base de variantes del antígeno O, y los serotipos se nombran por números arábigos. La *Shigella dysenteriae* se divide en 1, 2, 3, 4, 5 considerándose el 1 como el más patógeno. Todas estas especies tienen una exotoxina, siendo el de mayor cantidad *Shigella dysenteriae*. Las especies o serogrupos de *Shigella* son *S. boydii* (20 serotipos, serogrupo C), *S. sonnei* (1 serotipo, serogrupo D), *S. flexneri* (6 serotipos, serogrupo B), *S. dysenteriae* (15 serotipos, serogrupo A). La *S. flexneri* enteroinvasiva es considerada a nivel mundial como la responsable de la disentería bacilar endémica. <sup>20,21</sup>

Con respecto a los factores de virulencia, *Shigella* se une a las células HeLa, provocando la internalización citoplasmática y escape del fagosoma para lograr la reproducción en el citoplasma eucarionte. Luego, hay diseminación a las células vecinas, no entrando en contacto con el medio extracelular. <sup>17</sup>

El Plásmido de virulencia de 220 kb es primordial durante el proceso de invasión; si las cepas necesitan de él no son capaces de promover su internalización, y al ser transferido experimentalmente a otras especies, resultan cepas transformadas que son capaces de entrar a las células HeLa. De tal manera, el plásmido de virulencia es esencial en funciones bacterianas como secreción de diversos factores de virulencia, produce adhesinas e invasinas y se disemina intercelularmente a la bacteria. <sup>19</sup>

La *Shigella* libera su captación por las células M del colon, las bacterias se unen desde el inicio a las células presentadoras de antígenos (células dendríticas, macrófagos) y luego invaden a los enterocitos siendo liberados del fagosoma, multiplicados en el citoplasma y diseminados a las células adyacentes. <sup>18</sup>En la

región basal de las células hospederas se realiza el proceso de diseminación y multiplicación bacteriana, en donde el peptidoglicano y lipopolisacárido son liberados y activan quimiocinas y citocinas proinflamatorias activando la respuesta inmune innata. Otro dato importante son las toxinas de Shiga, consideradas como una familia de proteínas estructural, presentes en *Shigella dysenteriae* de serotipo 1; éstas inician su proceso al penetrar los enterocitos e inhiben la síntesis de proteínas debido a la inactivación catalítica de ribosomas eucariotes, así mismo generan apoptosis celular. <sup>20</sup>

El cuadro clínico inicia con una enteritis aguda, siendo su período de incubación 1 a 5 días; la sintomatología abarca desde un cuadro asintomático, luego diarrea leve hasta culminar con cuadros de diarrea tipo acuosa con fiebre, tenesmo, evacuaciones con moco, pus y sangre (disentería bacilar), náusea con o sin vómito y dolor abdominal tipo cólico. <sup>21</sup>

La resolución de la infección es de 4 a 7 días. La enfermedad es autolimitada, llegando a curarse en pocos días o prolongarse por una a cuatro semanas especialmente en niños y ancianos, complicándose en trastornos del equilibrio ácido-base, deshidratación hasta llegar a un estado de choque y en un síndrome urémico hemolítico como es en el caso de la *S. dysenteriae*. También han sido reportado megacolon tóxico, convulsiones en niños pequeños, prolapso rectal, bacteriemia y sepsis. <sup>17, 18</sup>

El "estándar de oro" para el diagnóstico de infección por *Shigella* permanece el aislamiento e identificación del patógeno a partir de material fecal. Una de las principales dificultades, en particular en áreas endémicas donde los análisis de laboratorio no se encuentran fácilmente disponibles, es la fragilidad de *Shigella* y es común su desaparición durante el transporte. <sup>18</sup>

*Shigella* se desarrolla tanto en medios sencillos y enriquecidos (agar chocolate, agar nutritivo, agar tripticaseína-soya y agar sangre), como en MacConkey, Salmonella-Shigella (SS), agares eosina-azul de metileno, Hecktoen, verde brillante (VB) y agar xilosa-lisina-desoxicolato (XLD). El crecimiento de *Shigella* es a 35°C y en 24 h, formando colonias blanquecinas o grisáceas (1 - 2 mm), consistencia butirácea, condiciones aerobias, de bordes regulares, aspecto



húmedo y convexas. Es no fermentador de lactosa (lactosa-negativa), y en las placas de MacConkey y SS, o roja en las de XLD y VB sus colonias adquieren color amarillo. También se emplea reacciones de aglutinación en placa, con sueros anti-A, anti-B, anti-C y anti-D. Los estudios de coprocultivos se fundamentan en la siembra de las evacuaciones tanto del moco como de sangre de la materia fecal. <sup>20,21</sup>

La importancia de prevenir enfermedades radica en: el uso de agua segura, sobre todo en lugares de bajo saneamiento con falta de abastecimiento de agua potable y el lavado de manos frecuentemente sobre todo en niños.

Reponer y mantener el equilibrio hidroelectrolítico es parte primordial del tratamiento, así como el uso de antibióticos solo es exclusivo para la disentería causada por *Shigella* es sus formas moderada a grave. Dentro del tratamiento farmacológico de primera línea y el de elección se encuentra: ciprofloxacino (quinolona) en niños la dosis es 15mg/kg cada 12 horas por 3 días, en adultos 500 mg cada 12 horas por 5 días; dentro de los de segunda línea: azitromicina y ceftriaxona. Se han identificado alta resistencia al trimetoprim-sulfametoxazol, la ampicilina y aún a las quinolonas. El tratamiento para shigelosis debe adaptarse al contexto clínico, reconociendo que los pacientes más débiles son los niños menores de cinco años de edad, quienes constituyen casi 66% de los casos en todo el mundo. Sin embargo, el uso extenso e incontrolado de antibióticos ha incrementado el riesgo de cepas de *Shigella* resistentes a múltiples fármacos. <sup>18,19</sup>

De ahí radica la importancia de sustancias de origen natural (como es el aceite esencial de *Minthostachys mollis*) para evaluar el efecto antimicrobiano, presentando propiedades curativas para afecciones intestinales (diarreas de tipo bacteriano). <sup>8</sup>La efectividad medicinal de las plantas que tienen propiedades curativas es debida al principio activo, siendo alguno de ellos muy complejos, otros no se conoce su naturaleza química; otros fueron imitados, purificados y sintetizados. Encontrando fenoles, cumarinas, aceites esenciales, terpenos, flavonoides, resinas, taninos, glúcidos, sapogeninas, alcaloides, carotenoides y quinonas.<sup>21</sup>

Los aceites esenciales son extraídos de plantas por destilación, considerados como mezclas de sustancias volátiles, se hallan en tallos, raíz y hojas, pueden ser líquidos y muy pocas veces sólidos. Presentan propiedades aromáticas; saborizantes y actualmente como agentes antioxidantes y antimicrobianos.<sup>21, 22</sup> Los aceites esenciales son efectivos contra numerosas bacterias gram negativas y gram positivas; así también contra levaduras, mohos. Tienen efecto inhibitorio frente al crecimiento de microorganismos las cuales inhiben la formación de esporas, deteniendo el crecimiento de levaduras y patógenos.<sup>24, 25</sup>

El modo de acción de estos aceites esenciales será según el tipo de microorganismos y su estructura tanto de pared celular y membrana externa. Investigaciones sugieren que estas podrían interferir con la fase del metabolismo intermedio de los microorganismos por medio de la inactivación de enzimas de reacción.<sup>23, 24</sup>

En cuanto a *Minthostachys mollis* bring, tiene como nombres populares: Coz, muña-muña, coa, orccomuña, poleo silvestre, arash muña, kon, ismuña, kon, martin muña (Bolivia), burrito (Paraguay). Es una especie originaria de las zonas templadas y soleadas de Sudamérica (Brasil, Colombia, Venezuela, Ecuador, Argentina, Perú y Bolivia), de preferencia por encima de 3500 mnsn. Se encuentra mayormente en los departamentos de Cusco (valle de Paucartambo, Pillahuata), Puno (meseta del Collao, Sicuani), Ayacucho, Huánuco, Apurímac, Lima y la Libertad (otuzco). Principalmente en pendientes pocas secas pedregosas.<sup>8, 25,26</sup>

Existe un total de 12 especies, cuya distribución se proyecta desde Argentina hasta Venezuela y encontrándose en el Perú 6 especies que se distribuyen desde el norte (Cajamarca) hasta el sur (Cusco), estas especies son: *Minthostachys setosa*, *Minthostachys glabrescens*, *Minthostachys spicata*, *Minthostachys salicifolia*, *Minthostachys mollis* y *Minthostachys tomentosa* griseb.<sup>8, 25,26</sup>

Crece silvestre en suelos ligeros, arenosos-arcillosos y ligeramente alcalinos. Es una planta herbácea andina de 1,2 m de altura. Tallo herbáceo de ramas divaricadas. Hojas verdes pecioladas, elípticas lanceoladas en la base, flores muy aromáticas. La flor es blanca y pequeña. Situadas en los verticilos lobosos ubicados en la axilas de las hojas superiores. Fruto compuesto por 4 núculas lisas. <sup>8, 24, 25</sup>

Su clasificación taxonómica pertenece a la familia lamiaceae, género *Minthostachys* y especie setosa brig. Con respecto a la composición química las hojas contienen aceite esencial (pulegona), mucílagos, mentona, alcaloides y esteroides, isomentona, linalol, caryphyllon, carvacrol, limoneno, cineol, carbohidratos, calcio, fósforo, vitamina B1, esencia de mentol. <sup>25</sup>

La pulegona es el componente más importante de muchos aceites *Minthostachys*. Tiene efecto antibacteriano, en grandes cantidades es altamente tóxico, dañando el hígado y causa aborto. La mentona también es un componente importante, representando más del 75% de la composición del aceite entero. *Mentha piperita*, es el componente más conocido de la menta. Tiene propiedades digestivas, utilizándose además en perfumería y tiene un sabor muy agradable a menta. El carvacrol es un componente con menos proporción. Desintegra la membrana externa de las bacterias gram negativas. El mentol se utiliza contra el dolor de garganta, tiene propiedades analgésicas, antibacterianas y tiene actividad frente a estreptococo, estafilococo, candidas y salmonelas. Y el linalol, componente menor del aceite de *Minthostachys*, es empleado como insecticida y condimento. <sup>25</sup>

La muña es conocida por sus propiedades digestivas contra flatulencias, cólicos, (carminativo), diarreas, vómitos; expectorante, antitusígenas, antiasmático, antiséptico, antiespasmódico, antiinflamatorio, analgésico, broncodilatador y expectorante. Se usa para la halitosis, combatir soroche y jaquecas. Está contraindicado en el embarazo y lactancia. <sup>25, 26</sup>

En ensayos in vitro; el aceite esencial de muña ha demostrado tener un efecto inhibitorio sobre *Shigella flexneri*, *E. coli*, *S. aureus*, *Shigella dysenteriae* y

presentes en infecciones gastrointestinales, infecciones de la piel y genitourinarias. Siendo la última especie más sensible.<sup>25</sup>

La actividad antimicrobiana in vitro, establece la susceptibilidad de un microorganismo, la potencia de un agente antibacteriano en solución, y su concentración en fluidos corporales o tejidos.<sup>8</sup>

#### **1.4 Formulación del problema**

¿El aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* “Muña”, tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Shigella flexneri* ATCC 12022, comparado con ciprofloxacino a 1ug, en un estudio in vitro?

#### **1.5 Justificación del estudio**

Los aceites esenciales de las plantas medicinales, tienen innumerables propiedades curativas entre ellas antimicótica, antibacteriana y antiviral, las cuales han sido poco estudiadas en el campo de la medicina. En esta oportunidad el producto natural de investigación es la muña planta muy difundida y conocida por las poblaciones andinas ya que la usan como planta curativa para afecciones gastrointestinales. El 25 % de los fármacos vendidos en el mercado derivan de una fuente vegetal, pese a ello, está en estudio el 1% de las 250 000 especies de interés farmacológico, en relación a su composición química y uso terapéutico. En vista de que en nuestra población hay un uso indiscriminado de ciertos antibióticos por lo cual se observó resistencia a los antimicrobianos, es por ello, que es muy interesante el uso de un tratamiento complementario a base de plantas medicinales cuyas propiedades ejercen actividad antibacteriana. Además presenta gran aceptación de la población por la medicina alternativa, ya que tiene menos coste y sobre todo menos efectos colaterales. Fue esto una razón primordial para evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* “Muña”.

## 1.6 Hipótesis

H1: El aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* “Muña”, tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Shigella flexneri* ATCC 12022, comparado con ciprofloxacino a 1ug, en un estudio in vitro.

H0: El aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* “Muña”, no tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Shigella flexneri* ATCC 12022, comparado con ciprofloxacino a 1ug, en un estudio in vitro.

## 1.7 Objetivos

### 1.7.1. Objetivo General

Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* “Muña”, sobre cepas de *Shigella flexneri* ATCC 12022, comparado con ciprofloxacino a 1ug, en un estudio in vitro.

### 1.7.2. Objetivo Específico

- Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* a una concentración del 25%.
- Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* a una concentración del 50%.
- Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* a una concentración del 75%.
- Establecer el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* a una concentración del 100%.
- Establecer el efecto antibacteriano de ciprofloxacino a 1ug.



## II. MÉTODO

**2.1 Diseño de investigación:** Experimental de repeticiones múltiples, post prueba.

RG1	X1	O 1
RG2	X2	O 2
RG3	X3	O 3
RG4	X4	O 4
RG5	X5	O 5
RG6	X6	O 6

DONDE:

RG: grupos de estudio: 06

X1 Dilución del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* al 25%

X2 Dilución del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* al 50%

X3 Dilución del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* al 75%

X4 Dilución del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* al 100%

X5 Gold estándar, ciprofloxacino a 1ug.

X6 control negativo: DMSO.

O: Las observaciones del diámetro del halo de inhibición

## 2.2 Variables, Operacionalización

**Variable independiente:** Agente antibacteriano.

- a) Agente no farmacológico: Aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* “Muña”.
- b) Agente farmacológico: ciprofloxacino a 1ug (Gold estándar).

**Variable dependiente:** Efecto antibacteriano

- a. Si efecto antibacteriano:  $\geq 21\text{mm}$
- b. No efecto antibacteriano:  $< 21\text{mm}$

### OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
<b>V.I: Agente antibacteriano.</b>	Para el agente <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022 se utiliza:  Agente no farmacológico con aceite esencial de la hoja de <i>Minthostachys mollis</i> (Muña) <sup>8</sup>  Agente farmacológico con ciprofloxacino a dosis de 1ug <sup>7</sup>	La población fue dividida en los siguientes grupos:  Aceite esencial de la hoja de <i>Minthostachys mollis</i>  a) al 100% b) al 75% c) al 50% d) al 25% e) Ciprofloxacino 1ug f) DMSO	RG1 RG2 RG3 RG4 RG5 RG6	Cualitativa nominal
<b>V. D: efecto antibacteriano.</b>	Es la eliminación o inhibición del crecimiento bacteriano, desarrollado en un medio dado. <sup>8</sup>	a) Se evaluó mediante el método de disco de M02A12 y M100 del CLSI <sup>23,24</sup> . Sensible: $\geq 21\text{mm}$ Intermedio: 16-20mm Resistente: $\leq 15\text{mm}$	Si efecto antibacteriano: $\geq 21\text{mm}$  No efecto antibacteriano: $< 21\text{mm}$	Cualitativa nominal



### **2.3. Población y muestra. Criterios de selección.**

**Población:** Estuvo conformada por cepas de *Shigella flexneri* ATCC 12022 que fueron cultivadas en el laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Trujillo.

**Muestra:**

**Tamaño de muestra:** Los promedios relacionados a los diámetros de los halos de inhibición<sup>27</sup>: Fue constituida por 12 repeticiones por cada grupo de experimento. (Ver anexo 01)

**Unidad de análisis:** Lo constituyó cada cepas de *Shigella flexneri* ATCC 12022.

**Unidad de muestra:** Lo constituyó cada placa Petri de cultivos.

**Muestreo:** Para la presente investigación, las cepas fueron seleccionadas mediante muestreo aleatorio simple en cada grupo de cultivo.

**Criterios de selección:** Fueron:

**Criterios de inclusión:**

Cultivos puros de cepa de *Shigella flexneri* ATCC 12022.

Cultivos de 18-24 horas

**Criterios de exclusión:**

- Cultivos contaminados de cepas de *Shigella flexneri* ATCC 12022.
- Cultivo con cepas inertes.

## **2.4. Técnicas, procedimientos e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad**

**La técnica:** Se consideró la observación del crecimiento bacteriano en las placas Petri.

**Procedimiento:** (ver anexo 02)

- a. Tipificación de la planta por la UPAO. Inicialmente la muña fue recolectada en el mes de diciembre del 2017, en el centro poblado Otuzco-San Francisco del Sur, distrito de Otuzco, Provincia de Otuzco, Departamento La Libertad, la certificación de la planta a experimentar fue realizada por la Universidad Antenor Orrego de Trujillo (UPAO)
- b. Para la obtención del aceite esencial de las hojas de la planta *Minthostachys mollis* se procedió a utilizar el método de destilación por arrastre de vapor de agua. <sup>28</sup>
- c. Técnica para el cultivo se utilizó el agar Mueller-Hinton. <sup>28,29,30,31</sup>
- d. Determinación de la sensibilidad, de la prueba de actividad bacteriana se obtuvo mediante el método Kirby – Bauer. <sup>29,30,31,32</sup>

**Instrumento:** Se empleó una ficha donde se registró todos los datos importantes obtenidos en el laboratorio bajo la supervisión de un experto. En este instrumento se anotó el número de placas, las diluciones y las medidas de los halos de inhibición a las 18 horas. (Ver anexo 3)

### **Validación y confiabilidad del instrumento**

El instrumento fue validado por el estándar M100S 25 th edición del CLSI. <sup>32</sup>

Y por tres expertos que garantizaron que la información recolectada estuviera acorde con los objetivos de la investigación. (Ver anexo 4, 5)

## **2.5. Métodos de análisis de datos**

La información transcrita en la ficha de recolección de datos, fue procesada en la base de datos en el programa Windows versión SPSS 25.0. Los datos se sometieron al análisis multivariable (ANOVA) y posteriormente a prueba de homogeneidad de Post ANOVA: Tukey. (Ver anexo 06)

## **2.6. Aspectos éticos**

En el estudio se consideró las medidas de bioseguridad en el laboratorio dadas por el Ministerio de Salud.<sup>32</sup> Así mismo se considerará la aprobación del Comité de Investigación de la Facultad De Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo de Trujillo.

En el presente trabajo se respetó el principio de ética adoptado en el capítulo 6 de código de ética del Colegio Médico del Perú, especialmente el 6 art 48.<sup>34</sup>

### III. RESULTADOS

**Tabla 01.** Efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* “Muña”, sobre cepas de *Shigella flexneri* ATCC 12022, comparado con Ciprofloxacino a 1ug, en un estudio in vitro.

**Diámetros del halo de inhibición**

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Aceite esencial de muña al 100%	12	25.42	3.175	.917	23.40	27.43	23	32
Aceite esencial de muña al 75%	12	19.08	3.919	1.131	16.59	21.57	15	26
Aceite esencial de muña al 50%	12	16.08	2.746	.793	14.34	17.83	13	23
Aceite esencial de muña al 25%	12	11.33	1.923	.555	10.11	12.55	9	16
Ciprofloxacino	12	38.67	2.229	.644	37.25	40.08	35	42
Total	60	22.12	9.930	1.282	19.55	24.68	9	42

Fuente: Reporte de resultados del SPSS versión 25

**Tabla 02.** Efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* “Muña”, sobre cepas de *Shigella flexneri* ATCC 12022, comparado con Ciprofloxacino a 1ug, en un estudio in vitro.

**Análisis de varianza (ANOVA)**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	5360.100	4	1340.025	160.891	.000
Dentro de grupos	458.083	55	8.329		
Total	5818.183	59			

Fuente: Reporte de resultados del SPSS versión 25

**Tabla 03.** Efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* “Muña”, sobre cepas de *Shigella flexneri* ATCC 12022, comparado con Ciprofloxacino a 1ug, en un estudio in vitro.

#### Pruebas Post-hoc de tukey

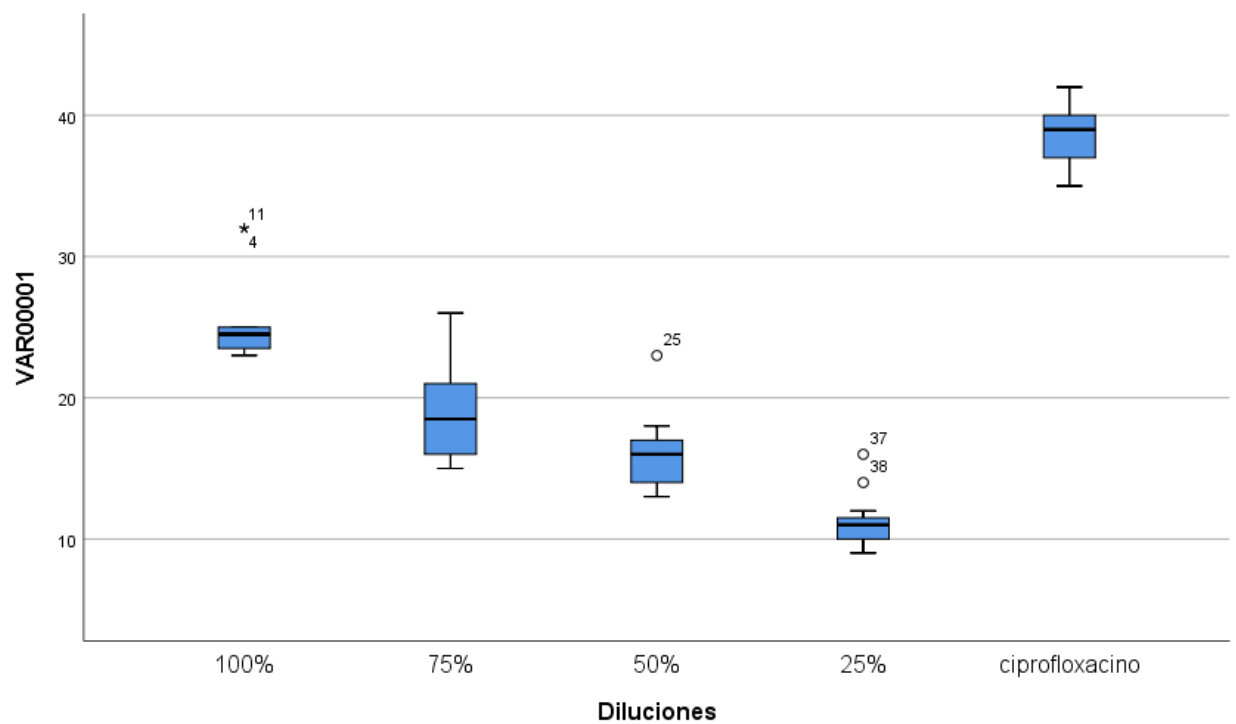
##### HSD Tukey<sup>a</sup>

Diluciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
25%	12	11.33			
50%	12		16.08		
75%	12		19.08		
100%	12			25.42	
ciprofloxacino	12				38.67
Sig.		1.000	.095	1.000	1.000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 12.000.

Fuente: Reporte de resultados del SPSS versión 25



Fuente: Reporte de resultados del SPSS versión 25

**GRÁFICO 01.** Efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* “Muña”, sobre cepas de *Shigella flexneri* ATCC 12022, comparado con Ciprofloxacino a 1ug, en un estudio in vitro.

#### IV. DISCUSIÓN

En el estudio se puede observar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* “Muña”, sobre cepas de *Shigella flexneri* ATCC 12022, comparado con Ciprofloxacino (Tabla 01), el aceite esencial muestra halos de inhibición en todas las concentraciones evaluadas; sin embargo al 100% se observa mayor halo de inhibición con una media de 25.42 mm 8DS.  $3.175 \pm 0.917$  (IC 95%: 23.40 – 27.30) entre un rango de 23mm a 32 mm, estando dentro de los parámetros considerados por el CLSI ( $\geq 21$ mm), como eficaz efecto antibacteriano para *Shigella flexneri* ATCC 12022. Los resultados se corroboran estadísticamente con la evaluación del ANOVA (Tabla 02) que indica que los resultados son altamente significativos (0.000) y con la prueba de Tukey (Tabla 03) nos muestra que los subgrupos del estudio fueron homogéneos y el mayor halo de inhibición correspondió a ciprofloxacino seguido de la dilución al 100% del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis*.

Se puede visualizar también en el gráfico 01, que a mayor concentración del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis*, mayor es el efecto de inhibición del halo, sin embargo este no llega a igualar al halo de inhibición que presentó el ciprofloxacino (38.76 mm).

No se reportaron estudios en relación a evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* sobre *Shigella flexneri* ATCC 12022, sin embargo se analizaron estudios con otras enterobacterias. Así los estudios realizados por Carhuapoma M, et al<sup>15</sup>, observaron que a la concentración al 100% de muña hubo efecto antimicrobiano frente a *Helicobacter pylori* con halos de inhibición promedio de 17,07 mm, *Salmonella typhi* 14,25 mm y *Shigella dysenteriae* 21,41 mm; concordando con nuestra investigación ya que también mostró actividad antibacteriana a la concentración del 100% con un halo de inhibición de 25.42mm. Los halos de inhibición para ciprofloxacino fueron: para *H. pylori* 177,27; *S. typhi* 63,44mm y *S. dysenteriae* 126,11mm. En nuestro estudio el ciprofloxacino presentó halo de inhibición 38.76 mm.



Así también Quispe D y Mamani J<sup>11</sup>, determinaron el efecto antibacteriano del aceite esencial de muña frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*, encontrando mayor efecto antibacteriano a la concentración del 100% con los siguientes halos de inhibición 23.50mm, 15.82mm, para control positivo paramonoclorofenol; ( $p=0.000$ , ANOVA)  $< 0.05$  (estadísticamente significativo).

Huari G<sup>12</sup> obtuvo que el aceite esencial de muña al 100% tuvo mayor efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans*, con un diámetro de 10,79 mm y el control positivo (amoxicilina) 49,3 mm; ( $p=.000$ )  $< 0.05$  (estadísticamente significativo). De la misma manera el estudio realizado por Aigaje A<sup>9</sup>, muestra mayor efecto antibacteriano a la concentración del 100% con un halo de inhibición 13.6mm frente a *Porphyromonas gingivalis*; (Kruskal wallis  $p=0.000$ ).

También el estudio realizado por Díaz K<sup>15</sup>, encuentra que el diámetro del halo de inhibición promedio para el aceite esencial de muña al 100% frente a *Fusobactrium nucleatum* fue de 20,13 mm, mostrando mayor efecto antibacteriano; ( $p=0.007$ , ANOVA), estadísticamente significativo. Así mismo frente a *S. mutans* (68 mm);  $p=0.000$ , ANOVA. Control positivo amoxicilina (49.89 mm)

Baca C<sup>10</sup> determinó mayor efecto antibacteriano a la concentración del aceite de muña al 100% frente a *P. vulgaris* con un halo de inhibición promedio de 16.10 mm ( $p=.000$ , ANOVA), así mismo el aceite esencial muestra halos de inhibición en todas las concentraciones evaluadas; al 75% (13,30 mm), al 50% (11,90 mm). Determinó también mayor efecto antibacteriano con muña al 100% frente a otras especies *P. rettgeri*, *P.morganii* y *P. mirabilis* con los siguientes halos de inhibición: 8.85 mm, 9.95 mm y 9.43 mm. Control positivo: Vancomicina presentó mayor actividad antibacteriana con un halo de inhibición de 20 mm.

Sin embargo Azaña I<sup>13</sup> difiere con nuestros resultados donde estableció que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100% y 50% tuvieron mayor efectividad antibacteriana contra la cepa *Enterococcus faecalis* con halos de inhibición de 9,0 mm y 7,0 mm y control positivo (paramonoclorofenol alcanforado) 12.2 mm. ( $p= 0.001$ , Kruskal y Wallis) (Estadísticamente significativo). También determinó mayor efecto antibacteriano a la concentración del 100% y 50% frente a las cepas *Fusobacterium nucleatum* y *Prevotella melaninogénica* con los siguientes halos de inhibición 12,7 mm, 9,9 mm; y 11,9 mm, 9,0 mm respectivamente, con una significación menor del 0.05% ( $p=0.004$ , Kruskal y Wallis).).

Por otro lado Alaba W.<sup>12</sup> estableció que el aceite esencial de la muña al 100% y 50% presentaron mayor efecto antibacteriano cuantitativamente frente a la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 con un halo inhibitorio de 11 mm y 8 mm respectivamente, con una significación menor del 0.05%.

## V. CONCLUSIÓN

- El aceite esencial de *Minthostachys mollis* mostró efecto antibacteriano sobre *Shigella flexneri*, pero a mayor concentración.
- El aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100%, presentó un halo de inhibición de 25.42 mm
- El aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 75%, presentó un halo de inhibición de 19.08 mm
- El aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 50%, presentó un halo de inhibición de 16.08 mm
- El aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 25 %, presentó un halo de inhibición de 11.33 mm
- El ciprofloxacino a 1ug presentó mayor halo de inhibición de 38.67 mm.

## VI. RECOMENDACIONES

- Aislar los principios activos causantes de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*.
- Se recomienda continuar con el estudio de las hojas de *Minthostachys mollis* en otras formas como etanólica u acuosa en búsqueda de mejores usos de la planta como una alternativa en el tratamiento coadyuvante de enfermedades gastrointestinales infecciosas, ya que no ha demostrado efectos adversos en otros estudios y es de fácil acceso a la población.
- Realizar más estudios en las especies del género *Shigella*; *S. flexneri*, *S. dysenteriae*, *S. boydii*, *S. sonnei*, en vista que la información sobre estas bacterias es escasa e insuficiente.

## VII. REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. Enfermedades diarreicas. 2017. Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>
2. Riveros M, Ochoa T. Enteropatógenos de importancia en salud pública. Rev Perú Med Exp Salud Pública, 2015; 32(1): 161. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342015000100022](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342015000100022)
3. Instituto de Salud Pública de Chile. Vigilancia de Shigella spp. Laboratorio de Referencia 2010. Chile; 2010. Disponible en: [http://www.ispch.cl/sites/default/files/Vigilancia\\_Shigella\\_spp\\_0.pdf](http://www.ispch.cl/sites/default/files/Vigilancia_Shigella_spp_0.pdf)
4. Gonzales S. Cecchini D. Diagnóstico e investigación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos. Organización Panamericana de la Salud. Disponible en: <http://new.paho.org/arg/publicaciones/publicaciones%20virtuales/libroETAs/modulo2/modulo2z2.html>
5. Perales M, Camiña M, Quiñones C. Infección por Campylobacter y Shigella como causa de diarrea aguda acuosa en niños menores de dos años en el Distrito de La Victoria, Lima – Perú. Rev Perú Med Exp Salud Pública 2002; 19 (4): 186-189. Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/Medicina\\_Experimental/v19\\_n4/enPDF/Infecci%C3%B3n.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/Medicina_Experimental/v19_n4/enPDF/Infecci%C3%B3n.pdf)
6. Gonzales C, Bada C, Rojas R. Guía de práctica clínica sobre el diagnóstico y tratamiento de la diarrea aguda infecciosa en pediatría Perú. Rev Gastroenterol, 2011; 31 (3): 260. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1022-51292011000300009&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1022-51292011000300009&script=sci_arttext)
7. Brunton L. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12ava edición. Mc Graw Hill, 2012.
8. Quispe J. caracterización físico química del aceite esencial dela muña (Minthostachys setosa) y su estudio bacteriano. (Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico. Perú. Universidad Nacional de Trujillo; 2015. Disponible en:

- [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3592/QuispeSanchez\\_J.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3592/QuispeSanchez_J.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
9. Aigaje A. "Efectividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* estudio in vitro(tipo) al 25, 50, 100 % frente a *Porphyromonas gingivalis*". Universidad Central del Ecuador. Ecuador 2016; 3(1). Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/5704>
  10. Baca C. Efecto inhibitorio del aceite esencial "muña" *Minthostachys mollis* sobre el género *Proteus*, causantes de infecciones del tracto urinario. (Tesis para Optar el título profesional de Biología). Perú. Universidad Nacional del Altiplano; 2017. Disponible en: [http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4777/Baca\\_Melo\\_Cynthia\\_Madeine.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4777/Baca_Melo_Cynthia_Madeine.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  11. Quispe D. Mamani J. "Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb (muña) sobre microorganismos prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico". (Tesis para optar el título profesional de Cirujano dentista). Perú. Universidad Nacional de Altiplano; 2016. Disponible en: [http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3252/Quispe\\_Humipiri\\_D%C3%A1nika\\_Mamani\\_Ascencio\\_Jhonny.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3252/Quispe_Humipiri_D%C3%A1nika_Mamani_Ascencio_Jhonny.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  12. Huari G. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en *Streptococcus mutans*. (Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista). Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014. Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3680/Huari\\_gg.pdf?sequence=1](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3680/Huari_gg.pdf?sequence=1)
  13. Alaba W. Jimenez C. "Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212." (Tesis para Optar el grado de Maestro en Estomatología). Perú. Universidad Nacional de Trujillo. 2013 Disponible en: <https://studylib.es/doc/339473/universidad-nacional-de-trujillo-escuela-de-postgrado-mae...>
  14. Azaña I. "Efectividad Antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* griseb (muña) sobre bacterias prevalentes en

- patologías periapicales crónicas de origen endodóntico” (Tesis para obtener el título de Cirujano Dentista). Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014. Disponible en: <http://www.cop.org.pe/bib/tesis/ISAACLITOAZANAESPINOZA.pdf>
15. Carhuapoma M, López S. Roque M. Velapatiño B. Bell C. Whu D. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb “ruyaq muña”. *Ciencia e Investigación* 2009; 12(2): 83-89. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/viewFile/3404/4499>
  16. Díaz L. Determinación de la actividad antibacteriana “in vitro” de *Minthostachys mollis* (muña) frente a bacterias orales de importancia estomatológica. (Tesis para optar el título de cirujano dentista). USMSM. Lima 2005:33-42. Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2811/Diaz\\_1k.pdf;jsessionid=C480E20E0933E78D1878315751941325?sequence=1](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2811/Diaz_1k.pdf;jsessionid=C480E20E0933E78D1878315751941325?sequence=1)
  17. Molina J. Uribarren T. Infecciones por *Shigella* spp. Departamento de Microbiología y Parasitología- Recursos en Bacteriología. México. 2011. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/shigella.html>
  18. Longon D, Kasper D, Jamesson J, Fauci A, Hausen S, Loscalzo J. Harrison. Principios de Medicina Interna, 18ed. New York, N.Y. USA Editorial: Mc Graw Hill Interamericana; 2012.p.943, 962-965.
  19. Goldman L. Ausiello D. Cecil tratado de medicina interna. Vol 2. 23<sup>o</sup> edición. Barcelona, España: Elsevier Masson; 2009.
  20. Brooks G, Butel J, Morse S. Microbiología médica de Jawertz, Melnick, y Adelberg. 23 ed. México. Editorial: El Manual Moderno; 2005. p.250,251.
  21. Murray P. Rosenthal K. Pfaller M. Microbiología médica. 6<sup>o</sup> edición. Barcelona, España: Elsevier Masson; 2009.
  22. Lock Olga. Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales. 2<sup>a</sup> ed. Lima: Editorial Copyringht; 1994. Disponible en:

- [https://books.google.com.pe/books?id=N36g2QOccXkC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=N36g2QOccXkC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)
23. Reyes F, Palou E, López A. métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana de los componentes químicos de los aceites esenciales. Disponible en: <http://web.udlap.mx/tsia/files/2015/05/TSIA-81-Reyes-Jurado-et-al-2014.pdf>
24. Mendocilla M, Villar M. Monografías de plantas medicinales. Manual de fitoterapia. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/cap7.pdf>
25. Roersch C, Van der Hoogte L. Plantas medicinales del Surandino del Perú. 1 ed. Cusco-Perú. Editorial: Centro de Medicina Andina; 1988.
26. Indecopi. Centro de información y documentación. Boletín de muña. 2014. Disponible en: [https://www.indecopi.gob.pe/documents/20182/143803/boletin\\_intro\\_mu\\_nia.pdf](https://www.indecopi.gob.pe/documents/20182/143803/boletin_intro_mu_nia.pdf)
27. Dawson B. Bioestadística médica. 4 ed. México: Editorial El Manual moderno; 2012.
28. Mendoza P, Salgado C, Alcántara G, Soto L. Química orgánica. Destilación por arrastre de vapor. Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey Campus Puebla Escuela de Ingeniería y Ciencias Aplicadas. Disponible en: <https://www.sites.google.com/site/equipoquimicaexperimental6/practica-5-destilacion-por-arrastre-de-vapor>
29. Picazo J. métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Procedimientos en microbiología. Disponible en: [https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientos\\_microbiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf](https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientos_microbiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf)
30. Clinical and Laboratory Standards Institute- CLSI Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition. M02-A12. Junio 2015. 35(1):10.
31. Clinical and Laboratory Standards Institute- CLSI Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition. M02-A11. Junio 2011. 32(1):9-11.

32. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100-S25, 28 th ed. Junio 2018. 38(3):35.
33. Ministerio de Salud del Perú. Manual de procedimientos bioseguridad en laboratorios de ensayo, biomédicos y clínicos. Lima: Ministerio de salud, Instituto Nacional de Salud; 2005. [citado: 25 de mayo del 2017]. Disponible en URL: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1669.pdf>
34. Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. Lima [Perú]: CMP; 2007. [citado: el 15 de junio del 2017]. Disponible en URL: [http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/05/ley\\_creacion\\_cmp.pdf](http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/05/ley_creacion_cmp.pdf)



## VIII. ANEXOS:

### ANEXOS 01

#### Fórmula para el Tamaño de muestra

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2}{(X_1 - X_2)^2} \frac{2\sigma^2}{\alpha^2}$$

n= 12 repeticiones

**Donde:**

$Z_{\alpha/2}$ : 1.96

$Z_{\beta}$ : 0.842

$2\sigma^2$  : 2.59<sup>15</sup>

$X_1$ : 13.2<sup>15</sup>

$X_2$ : 11.9<sup>15</sup>

## ANEXO 02

### PROCEDIMIENTOS

- a. Tipificación de la planta por la UPAO. Inicialmente la muña fue recolectada en el mes de noviembre del 2017 en el distrito de Otuzco, Departamento de La Libertad, la certificación de la planta a experimentar fue realizada por la Universidad Antenor Orrego de Trujillo (UPAO)



- b. Para la obtención del aceite esencial de las hojas de la planta *Minthostachys mollis* se procedió a utilizar el método de destilación por arrastre de vapor de agua.

Las plantas frescas de *Minthostachys mollis* “Muña”, son procedentes de la localidad de San Francisco del Sur-Otuzco, en una cantidad de 5 a 6 Kg aproximadamente y se llevaron al laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Trujillo, donde se seleccionaron los ejemplares con buenas condiciones; de este modo, se obtuvo la “muestra fresca” (MF). La MF se lavó con agua destilada clorada, se colocó sobre una bandeja de cartulina y se llevó a un horno a 40-45°C por 3-4 días donde se deshidrató. Después, se estrujó manualmente el vegetal seco hasta que se obtuvo partículas muy pequeñas y se reservó almacenándolas herméticamente en bolsas negras. A esto se le consideró como “muestra seca” (MS).

El aceite esencial de *Minthostachys mollis* se obtuvo por el método de arrastre de vapor de agua; para ello, en un balón de 2 L se colocó 1,5 L de agua destilada y en un balón de 4 L se colocó la MS hasta que llenó las 3/4 partes del balón. Ambos balones se taparon herméticamente y estuvieron conectados a través de un ducto. Al mismo tiempo el balón con la MS estuvo conectado a un condensador recto (refrigerante), el cual desembocó en un embudo decantador tipo pera. De tal modo que, el Balón con agua se calentó con una cocina eléctrica y el vapor de agua pasó a través del ducto hacia el Balón con la MS y arrastró los componentes fitoquímicos (incluido los lípidos). Este vapor se condujo hacia el condensador en donde se convirtió en líquido que fue recepcionado por el decantador tipo pera. Este líquido se disoció en dos fases, quedando el aceite en la superficie por diferencia de densidades. Este proceso se realizó en 2 horas. De este modo, se obtuvo el Aceite Esencial (AE) considerado al 100%; el cual se colocó en un frasco de vidrio ámbar y se reservó a 4°C hasta su utilización.



- c. Técnica para el cultivo se utilizó el agar Mueller-Hinton.

#### **Preparación del medio de cultivo**

Se utilizó agar Mueller-Hinton como medio de cultivo. Se preparó suficiente medio para 12 placas Petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidificó completamente.



- d. Determinación de la sensibilidad mediante el método Kirby – Bauer. la prueba de actividad bacteriana se obtuvo mediante el método de Kirby-Bauer.

#### **Prueba de susceptibilidad (Prueba de Disco difusión en agar)**

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M02-A12 y M100. <sup>21, 22, 23, 24, 25</sup>

a) Preparación del inóculo

El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Minthostachys mollis*, cultivado hace 18-20 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/ml aprox.)



b) Siembra del microorganismo

Se sembró el microorganismo *Minthostachys mollis*, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.





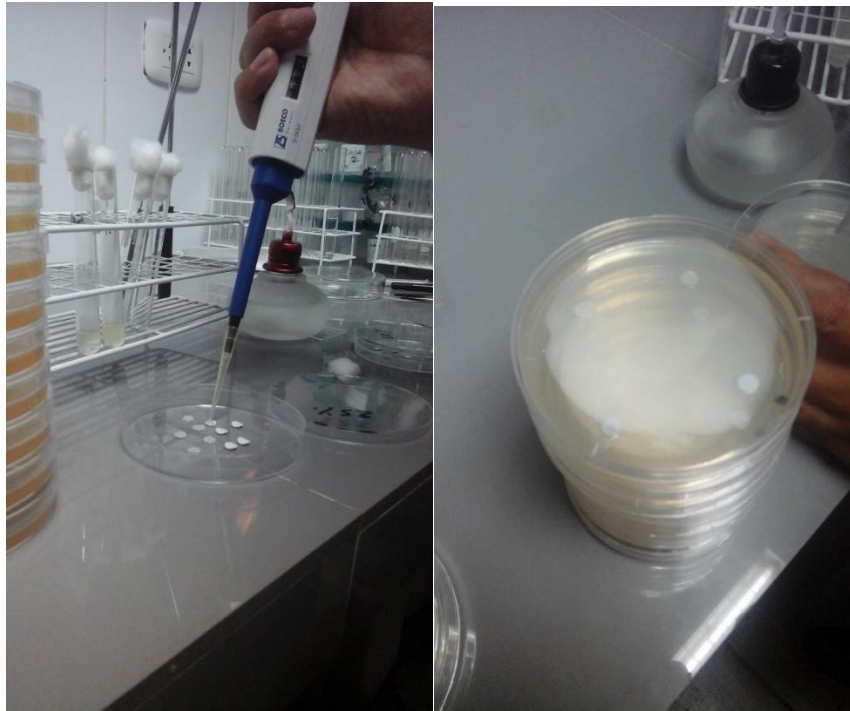
c) Preparación de las concentraciones del AE

A partir del AE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfóxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750  $\mu\text{L}$  de AE y 250  $\mu\text{L}$  de DMSO al tubo de 75%, 500  $\mu\text{L}$  de AE y 500  $\mu\text{L}$  de DMSO al tubo de 50%, y 250  $\mu\text{L}$  de AE y 750  $\mu\text{L}$  de DMSO al tubo de 25%.



d) Preparación de los discos de sensibilidad con AE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10 µL en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 µL de AE al 25% y se colocó en un disco, 10 µL de AE al 50% en otro disco, 10 µL de AE al 75% en otro disco y 10 µL de AE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces.



e) Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con AE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Minthostachys mollis*, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con ciprofloxacino (control positivo). Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas.



f) Lectura e interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de AE de *Minthostachys mollis* y para el ciprofloxacino. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI.



### Anexo 03

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE LA HOJA DE *Minthostachys mollis* “Muña” SOBRE CEPAS DE *Shigella flexneri* ATCC 12022, COMPARADO CON CIPROFLOXACINO, ESTUDIO IN VITRO.**

N° de repeticiones	Diluciones (Halos de inhibición en mm) del aceite esencial de las hojas de ( <i>Minthostachys mollis</i> )				Control positivo	Control negativo
	C1 100%	C2 75%	C3 50%	C4 25%	Ciprofloxacino	DMSO
Placa 1	25	20	23	16	42	0
Placa 2	23	22	15	14	38	0
Placa 3	24	19	18	10	36	0
Placa 4	32	26	14	11	40	0
Placa 5	24	18	16	12	39	0
Placa 6	23	20	17	10	36	0
Placa 7	24	15	13	9	38	0
Placa 8	25	16	17	11	39	0
Placa 9	25	16	16	11	42	0
Placa 10	23	15	13	10	35	0
Placa 11	32	26	14	11	40	0
Placa 12	25	16	17	11	39	0

## ANEXO 04

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm)				MIC Interpretive Criteria (µg/mL)				Comments
			S	SDD	I	R	S	SDD	I	R	
AMINOGLYCOSIDES											
(30) WARNING: For <i>Salmonella</i> spp. and <i>Shigella</i> spp., aminoglycosides may appear active <i>in vitro</i> but are not effective clinically and should not be reported as susceptible.											
A	Gentamicin	10 µg	≥ 15	–	13–14	≤ 12	≤ 4	–	8	≥ 16	
A	Tobramycin	10 µg	≥ 15	–	13–14	≤ 12	≤ 4	–	8	≥ 16	
B	Amikacin	30 µg	≥ 17	–	15–16	≤ 14	≤ 16	–	32	≥ 64	
O	Kanamycin	30 µg	≥ 18	–	14–17	≤ 13	≤ 16	–	32	≥ 64	
O	Netilmicin	30 µg	≥ 15	–	13–14	≤ 12	≤ 8	–	16	≥ 32	
O	Streptomycin	10 µg	≥ 15	–	12–14	≤ 11	–	–	–	–	(31) There are no MIC interpretive standards.
MACROLIDES											
Inv.	Azithromycin	15 µg	≥ 13	–	–	≤ 12	≤ 16	–	–	≥ 32	(32) <i>Salmonella</i> Typhi only: Interpretive criteria are based on MIC distribution data.
TETRACYCLINES											
(33) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline, minocycline, or both.											
C	Tetracycline	30 µg	≥ 15	–	12–14	≤ 11	≤ 4	–	8	≥ 16	
O	Doxycycline	30 µg	≥ 14	–	11–13	≤ 10	≤ 4	–	8	≥ 16	
O	Minocycline	30 µg	≥ 16	–	13–15	≤ 12	≤ 4	–	8	≥ 16	
QUINOLONES AND FLUOROQUINOLONES for <i>Enterobacteriaceae</i> except <i>Salmonella</i> spp. (Please refer to Glossary I.)											
B	Ciprofloxacin	5 µg	≥ 21	–	16–20	≤ 15	≤ 1	–	2	≥ 4	See comment (23).
B	Levofloxacin	5 µg	≥ 17	–	14–16	≤ 13	≤ 2	–	4	≥ 8	
O	Cinoxacin	100 µg	≥ 19	–	15–18	≤ 14	≤ 16	–	32	≥ 64	
O	Enoxacin	10 µg	≥ 18	–	15–17	≤ 14	≤ 2	–	4	≥ 8	See comment (23).
O	Gatifloxacin	5 µg	≥ 18	–	15–17	≤ 14	≤ 2	–	4	≥ 8	
O	Gemifloxacin	5 µg	≥ 20	–	16–19	≤ 15	≤ 0.25	–	0.5	≥ 1	
O	Grepafloxacin	5 µg	≥ 18	–	15–17	≤ 14	≤ 1	–	2	≥ 4	
O	Lomefloxacin	10 µg	≥ 22	–	19–21	≤ 18	≤ 2	–	4	≥ 8	
O	Ofloxacin	5 µg	≥ 16	–	13–15	≤ 12	≤ 2	–	4	≥ 8	
U	Nalidixic acid	30 µg	≥ 19	–	14–18	≤ 13	≤ 16	–	–	≥ 32	
U	Norfloxacin	10 µg	≥ 17	–	13–16	≤ 12	≤ 4	–	8	≥ 16	
Inv.	Fleroxacin	5 µg	≥ 19	–	16–18	≤ 15	≤ 2	–	4	≥ 8	(34) These interpretive criteria are for urinary tract isolates of <i>Enterobacteriaceae</i> except <i>Salmonella</i> .

## **ANEXO 05**

## ANEXO 06

### EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE LA HOJA DE *Minthostachys mollis* “Muña” SOBRE CEPAS DE *Shigella flexneri* ATCC 12022, COMPARADO CON CIPROFLOXACINO, ESTUDIO IN VITRO.

#### Comparaciones múltiples

Variable dependiente:

HSD Tukey

(I) Diluciones		Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
100%	75%	6.333*	1.178	.000	3.01	9.66
	50%	9.333*	1.178	.000	6.01	12.66
	25%	14.083*	1.178	.000	10.76	17.41
	ciprofloxacino	-13.250*	1.178	.000	-16.57	-9.93
75%	100%	-6.333*	1.178	.000	-9.66	-3.01
	50%	3.000	1.178	.095	-.32	6.32
	25%	7.750*	1.178	.000	4.43	11.07
	ciprofloxacino	-19.583*	1.178	.000	-22.91	-16.26
50%	100%	-9.333*	1.178	.000	-12.66	-6.01
	75%	-3.000	1.178	.095	-6.32	.32
	25%	4.750*	1.178	.002	1.43	8.07
	ciprofloxacino	-22.583*	1.178	.000	-25.91	-19.26
25%	100%	-14.083*	1.178	.000	-17.41	-10.76
	75%	-7.750*	1.178	.000	-11.07	-4.43
	50%	-4.750*	1.178	.002	-8.07	-1.43
	ciprofloxacino	-27.333*	1.178	.000	-30.66	-24.01
ciprofloxacino	100%	13.250*	1.178	.000	9.93	16.57
	75%	19.583*	1.178	.000	16.26	22.91
	50%	22.583*	1.178	.000	19.26	25.91
	25%	27.333*	1.178	.000	24.01	30.66

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Fuente: Reporte de resultados del SPSS versión 25